

Année 1956

672 N°

T H E S E

pour

le DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'ETAT)

par

COCAULT-DUVERGER Anne

Née le 21 Février 1926 à NANTES (Loire-Inférieure)

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU POUVOIR ANTICOMPLEMENTAIRE du "LIQUOIDE"
Son UTILISATION DANS LES HEMOCULTURES.

Président de Thèse : Monsieur le Professeur FASQUELLE

Editions A.G.E.M.P.

Nom du candidat : COCAULT-DUVERGER

Prénom : Anne

Date de la Soutenance :

N°

I

COCAULT-DUVERGER Anne
Contribution à l'Etude
du pouvoir anticomplé-
mentaire du "Liquoïde"
son utilisation dans les
Hémocultures.

N°

Thèse Med. Paris 1956
Dact. in 4° 19 pages
Ed. A.G.E.M.P. 1956

2

COCAULT-DUVERGER Anne
Contribution à l'Etude
du pouvoir anticomplé-
mentaire du "Liquoïde"
son utilisation dans les
Hémocultures.

N°

Thèse Méd. Paris 1956
Dact. in 4° 19 pages
Ed. A.G.E.M.P. 1956

3

COCAULT-DUVERGER Anne
Contribution à l'Etude
du pouvoir anticomplé-
mentaire du "Liquoïde"
son utilisation dans les
Hémocultures.

N°

Thèse Méd. Paris 1956
Dact. in 4° 19 pages
Ed. A.G.E.M.P. 1956

4

COCAULT-DUVERGER Anne
Contribution à l'Etude
du pouvoir anticomplé-
mentaire du "Liquoïde"
son utilisation dans les
Hémocultures.

N°

Thèse Méd. Paris 1956
Dact. in 4° 19 pages
Ed. A.G.E.M.P. 1956

Année 1956

N°

T H E S E

pour

le DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'ETAT)

par

MOCAULT-DUVERGER Anne

née le 21 Février 1926 à NANTES (Loire-Inférieure)

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU POUVOIR ANTICOMPLEMENTAIRE du "LIQUOIDE"
Son UTILISATION DANS LES HEMOCULTURES.

Président de Thèse : Monsieur le Professeur FASQUELLE

Editions A.G.E.M.P.



DOYEN HONORAIRE : M. BAUDOIN

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BAUDOIN, BENARD (H.), CADENAT, CARNOT, CHABROL, CHAMPY, CHEVASSU, DELBET, DONZELOT, GASTINEL, GUILLAIN, HALPHEN, HARVIER, LAROCHE (G.), LAUBRY, LEMAITRE, LEMIERRE, LEVY-SOIAL, LHERMITTE, LIAN, LOEPER, MARION, MATHIEU, MCCQUOT, MONDOR, MULON, OLIVIER (E.), OMBREDANNE, SANNIE, SEZARY, TANON.

DOYEN Léon BINET (membre de l'Institut).

ASSESEUR Jean VERNE.

I - PROFESSEURS

Anatomie	CORDIER (G.)	
Anatomie Pathologique	DELARUE (A.)	
Bactériologie	N...	
Biologie appliquée à l'Education physique et aux sports ..	CHAILLEY-BERT (P.)	
Biologie Médicale	VERNE (J.)	
Cancérologie médicale et sociale	N...	
Carcinologie	OBERLING (C.)	
Chimie médicale.....	JAYLE (M.F.)	
Cliniques Chirurgicales	{ Hôtel Dieu	BROCQ (P.)
	{ Broussais	DE GAUDART-D'ALLAINES (F.)
	{ Salpêtrière	N...
	{ Cochin.....	QUENU (J.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE d'AUBIGNE (R.)	
Clinique de cardiologie	MOUQUIN (M.)	
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE (M.)	
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD (R.)	
Clinique de la tuberculose	BERNARD (E.)	
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS (D.)	
Clinique de puériculture	LELONG (M.)	
Cliniques des maladies cutanées et syphilitiques	DEGOS (R.)	
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER (P.)	
Clinique des maladies du système nerveux	ALAJOUANINE (T.)	
Clinique des maladies des enfants	DEBRE (R.)	
Cliniques des maladies infectieuses	MOLLARET (P.)	
Cliniques des maladies mentales et de l'encéphale.....	DELAY (J.)	
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)	
Cliniques Médicales	{ Hôtel Dieu	N...
	{ Bichat	N...
	{ Cochin	MOREAU (R.)
	{ Broussais	DE GENNES (L.)
Clinique médicale d'hydro-climatologie thérapeutique ...	JUSTIN-BESANCON (L.)	
Clinique médicale prophécutique	PASTEUR VALLERY-RADOT (L.)	
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition	BOULIN (R.)	
Cliniques Obstétricales	{ Tarnier	LANTUEJOUL (P.)
	{ Brudelocque	N...
	{ Port-Royal	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique	VELTER (E.)	
Clinique Oto-rhino-laryngologique	AUBIN (A.)	
Clinique physio-phatclogique des problèmes alimentaires ..	RICHET (C.)	
Clinique Psychiâtrique infantile	HEUYER	

Clinique rhumatologique et sociale	COSTE (F.)
Clinique stomatologique	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE (J.)
Clinique Thérapeutique médicale	LEMAIRE (A.)
Clinique urologique	FEY (E.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Génétique médicale	LAMY (M.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N...
Histologie	N...
Hygiène et clinique de la première enfance	CATHALA (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (C.)
Médecine du Travail.....	DESOLLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale	GAILLARD (H.)
Pathologie chirurgicale	MENEGAUX (G.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	LENEGRE (J.)
Pathologie humorale et immunologie expérimentale	MERKLEN (F.P.)
(chaire à titre personnel)	
Pathologie Médicale	BARIETY (M.)
Pathologie et thérapeutique générales	GARCIN (J.)
Pédiatrie sociale	MARIE (J.)
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
Physico-chimie médicale (chaire à titre personnel) ...	DOGNON (A.)
Physiologie.....	BUNET (L.)
Physique médicale	STROHL (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale.....	MOULONGUET (P.)
Thérapeutique	TURPIN (R.)

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES et AGREGES

Anatomie.....	DEIMAS (A.), pr.s.ch., DEBEYRE (J.) OLIVIER (), N...
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARD (Melle P.) pr.s.ch., BUSSE (F.), GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie	NEVOT (A.), N...
Biochimie médicale	ETTORI (J.), pr.s. ch., N..., N...
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
Dermato-syphiligraphie	DUPERRAT (F.)
Embryologie	TUCHMANN
Histologie	BULLIARD (H.) pr.s.ch. N..., N...
Hydrologie	N...,
Hygiène	BOYER (J.), pr.s.ch. DEPARIS (M), pr.s.ch.
Maladie infectieuses	N...
Médecine légale et du Travail	DEROBERT (L.), pr.s.ch., GAULTIER (M.) HADENGUE (A.), N...
Neurochirurgie	DAVID (M.)
Neurologie	N...
Obstétrique	GRASSET (J.), LEPAGE (F.), MERCIER (R.), MORIN (P.), RAVINA (J.), N..., N...
Ophthalmologie	LESVIGNES (P.), N...
Orthopédie	JUDET (R.)
Oto-rhino-laryngologie	AUBRY (M.), MADURO (R.)
Parasitologie	CHABAUD (A.), N...

Pathologie chirurgicale	ABOULKER (P.), BAUMANN (J.), GOSSET (J.), LAURENCE (G.) LORTAT-JACOB (J.), OLIVIER (Cl.) POILLEUX (F.), VERNE (J.M.), N..., N..., N..., N..., N..., N..., N..., N....
Pathologie expérimentale	N..., N...
Pathologie médicale	BERNARD (J.), BOUDIN (G.), CASTAIGNE (P.) CONTE (M.), DOMART (A.), LAMOTTE (M.), LAROCHE (Cl.), MILLIEZ (P.), PEQUIGNOT (H.), PIERRE (M.), RAIMBERT (P.), THIEFFRY (ST) TURIAT (J.), N..., N..., N..., N..., N..., N..., N...
Pédiatrie	JOSEPH (R.), N..., N...
Pharmacologie	CHEYROL (J.), pr.s. ch. LEVY (Mlle J), pr. s.ch. BARGETON (D.), pr.s.ch. PARROT (J.), pr.s.ch. DEJOURS (P.) DJOURNO (A.), pr.S.ch. GOUGEROT (L.)
Physique Médicale	DJOURNO (A.), pr.S.ch. GOUGEROT (L.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
Psychiatrie	N...
Psychiatrie infantile	MICHAUX (Z.)
Rhumatologie	N...
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.), CERNEA (P.)
Thérapeutique	N....
Urologie	KUSS (R.)

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE et AGREGES

CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

Clinique chirurgicale	ANELINE (A.), HUGUIER (J.), LEGER (L.), PADOVANI (P.p, PATEL (J.), ROUX (M.); RUDLER (J.C.), SICARD (A.)
Clinique médicale	BROUET (G.), N..., DECOURT (J.) DREIFUS (Gilbert), FAUVERT (R.), HAGUENAU (M.) pr.s.ch., HAMBURGER (J.), KOURILSKY (R.), MARCHAL (G.), SOULIE (E.)
Clinique Obstétricale	ESCALLE (G.), MAYER (M.), VARANGOT (J.)
Clinique Ophtalmologique.....	OFFRET (G.), RENARD (G.)
Clinique urologique	COUVELAIRE (R.)
Socrétaire général de la Faculté.....	M. MOREL (J.)
Socrétaire	Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur, chargé de la direction	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur	Mlle GOICHON
Bibliothécaires	(Mlles DU AITRE (F.), LAURENT H. LE NOIR (G.), QUIEVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 dec. 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552418_0034

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DU POUVOIR ANTICOMPLEMENTAIRE
DU "LIQUOIDE"
SON UTILISATION
DANS LES HEMOCULTURES

A ma Mère,

A mon Père,

qui fut mon premier Maître,
qu'il trouve ici l'expression de mon affec-
tion et de ma reconnaissance filiale.

Meis et Amicis.

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur FASQUELLE,
Professeur de Bactériologie à la Faculté de
Médecine,
Médecin des Hôpitaux,

qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de cette
thèse, en témoignage de notre
respectueuse gratitude.

A Monsieur le Docteur TRICHERBEAU

Médecin biologiste des Hôpitaux de Nantes,

qui nous a inspiré le sujet de
cette thèse et guidé dans l'exécution
de ce travail,

qu'il veuille bien trouver ici
l'expression de notre vive reconnaissance.

A nos Maîtres de l'Ecole de Médecine de Nantes,

Monsieur le Directeur,
Messieurs les Professeurs,

A nos Maîtres dans les Hôpitaux,

stage

Monsieur le Professeur BOQUIEN,
Monsieur le Professeur PICHAT,
Monsieur le Docteur MOUSSEAU

externat

Monsieur le Professeur VERAN,
Monsieur le Professeur PERRIN
Monsieur le Professeur MIRALLIE,
Monsieur le Docteur LAINE,
Monsieur le Professeur Y. BUREAU,
Monsieur le Professeur R. BUREAU,
Monsieur le Professeur PICARD,
Monsieur le Docteur VIEL

En témoignage de respectueuse
reconnaissance.

- INTRODUCTION -

L'hémoculture est le procédé technique permettant de cultiver et par suite d'identifier les germes, pathogènes ou non ; chariés par le torrent sanguin. Dans l'immense majorité des cas, les microbes ne peuvent se développer dans le sang circulant lequel présente un pouvoir microbicide extrêmement élevé. Les microbes localisés dans tel ou tel organe seront lancés dans la circulation, soit d'une manière régulière, soit par intermittence. Cette notion de non développement du germe dans le sang laissera donc prévoir dans de nombreux cas un nombre très restreint de germes circulants. La pratique de l'hémoculture devra permettre de soustraire ces germes à l'action microbicide du sang, et de leur offrir un milieu de culture favorable, permettant un développement facile et par suite une identification rapide.

La question du milieu ne semble pas présenter de difficultés : l'usage du bouillon nutritif enrichi ou non est universellement admis. Mais une difficulté se présente : le sang introduit dans le bouillon nutritif coagulera et les microbes retenus dans les mailles du coagulum ne pourront pas se développer. L'usage d'un anticoagulant est donc indispensable. Mais cet anticoagulant doit présenter un certain nombre de qualités : en particulier, il doit pouvoir supporter la stérilisation, et ne présenter aucun pouvoir toxique ou inhibiteur aux doses minimum requises pour que son action anticoagulante s'exerce pleinement. Cette absence de pouvoir inhibiteur doit être valable vis à vis de tous les germes quels qu'ils soient. Il n'est pas possible en effet de retenir un anticoagulant empêchant d'avance le développement de certains germes.

Ces conditions requises : milieu de culture favorable et anticoagulant, ne sont pas toujours suffisantes pour assurer un développement rapide des germes. Il reste en effet

la notion capitale du pouvoir bactéricide du sérum. Des études relativement récentes ont justement montré que ce pouvoir bactéricide était la propriété d'une protéine sérique : le complément ou alexine. Il y a donc un intérêt majeur à introduire dans l'hémoculture une substance (qui sera dans tous les cas l'anticoagulant lui-même) ayant la propriété de s'opposer à l'action microbicide du complément. La plupart des manuels de bactériologie classique ou récent parlent toujours de l'utilisation du bouillon citraté dans les hémocultures. Or en pratique journalière, l'usage des veinules nous fait utiliser couramment un anticoagulant : le liquoïde. Nous avons pensé utile de vérifier l'intérêt que peut présenter l'usage de cet anticoagulant en étudiant in vitro son pouvoir anticomplémentaire, et par suite son action neutralisante vis à vis du pouvoir bactéricide du sérum.

Nous serons donc amenés à étudier :

- I - Le Liquoïde
- 2 - Le complément et le pouvoir bactéricide du sérum
- 3 - L'action anticomplémentaire du liquoïde et son influence sur le développement des germes.

LE LIQUOÏDE -

Ce produit synthétique qui est le polyanétholsulfate de sodium a été commercialisé sous le nom de liquoïde par Hoffmann-La Roche.

C'est une poudre blanchâtre, soluble dans l'eau physiologique en donnant une solution incolore, limpide, stable même après stérilisation à l'autoclave. Le PH en solution à 0,5 % oscille autour de 6,3.

Le liquoïde n'a pas d'action hémolytique in vivo et in vitro. Il ne modifie pas la perméabilité de la membrane globulaire et n'entraîne pas de dilution plasmatique. Aussi est-il employé couramment comme anticoagulant dans les dosages chimiques tels que : urée, chlore, cholestérol, etc...

Son mode d'action (18) relève de deux facteurs :

- Précipitation du fibrinogène.
- Disparition du calcium libre dans le plasma par liaison de celui-ci avec le complexe liquoïdo-protéidique.

En plus de son action anticoagulante, il possède un pouvoir anticomplémentaire élevé aussi bien in vivo qu'in vitro, par suite il inhibe le pouvoir bactéricide normal du sang et semble favoriser le développement des bactéries.

Ce pouvoir anticomplémentaire que nous allons étudier est mis couramment en évidence dans la pratique sérologique. En effet, les sangs recueillis sur liquoïde sont devenus impropres à l'exécution de la réaction de déviation du complément de BORDET-WASSERMAN.

- LE COMPLEMENT et le POUVOIR BACTERICIDE du SERUM -

A la suite de la théorie phagocytaire de Metchnikoff, les auteurs se sont demandés si les humeurs n'auraient pas un rôle dans la défense de l'organisme.

En 1888, NUTTAL constate que le sérum sanguin possède un pouvoir bactéricide pour certains bacilles. Il pratique de nombreuses expériences sur l'homme et les animaux à sang chaud et conclut que tous les sérums possèdent ce pouvoir.

En 1890, BUCHNER en dialysant le sérum sanguin affirme que le pouvoir bactéricide est lié à une substance albuminoïde du sérum qu'il appelle : alexine.

Mais c'est Pfeiffer, en 1894, qui élucida le mécanisme de l'action bactéricide du sérum en réalisant l'expérience de la vibriolyse. Des cobayes vaccinés avec des doses croissantes de vibrions cholériques tués par la chaleur, sont réfractaires à l'injection intrapéritonéale de vibrions vivants virulents. En faisant des prélèvements toutes les dix minutes, l'auteur constate que les vibrions :

- perdent leur mobilité
- perdent leur forme
- s'agglutinent
- perdent leur affinité tinctotiale
- se transforment en granules qui sont ensuite digérés par les phagocytes.

Pfeiffer refit la même expérience in vitro. Dans des tubes à essai, il ensemence avec des vibrions vivants du sé-

rum d'animaux préparés : les vibrions sont bien agglutinés, mais il n'y a pas lyse. L'auteur conclut que la lyse est due à une substance existant chez l'animal vivant et qu'elle ne peut se faire in vitro.

En 1895, BORDET reprend l'expérience de PFEIFFER in vitro, mais avec du sérum frais. Il obtient une lyse. Il refait la même expérience avec du sérum chauffé : pas de bactériolyse. Mais en ajoutant à ce sérum chauffé un peu de sérum frais d'un animal normal, l'expérience se reproduit. La vibriolyse peut donc se faire in vivo et in vitro et est le résultat de l'action de deux substances :

- une substance spécifique qui n'existe que dans le sérum des animaux vaccinés, substance peu fragile, thermostable et appelée sensibilisatrice.
- une substance non spécifique, existant dans le sérum de tous les animaux, substance fragile, thermolabile. BORDET l'appela " complément ".

L'auteur démontra que ce phénomène est également applicable à la destruction des hématies étrangères par le sérum des animaux préparés avec ces hématies. Il se produit une lyse des hématies, se traduisant par un laquage du sérum. La réaction est fondée sur le fait que l'introduction d'un antigène est toujours suivie de la formation d'un anticorps, susceptible in vitro, en présence de son antigène, d'entrer en combinaison avec lui pour le neutraliser. Le complexe formé a la propriété de fixer le complément. Tel est le principe de la réaction de BORDET-GENGOU, réaction applicable à de nombreux cas de pathologie infectieuse.

Nous venons de voir que le complément est indispensable pour assurer la lyse dans la vibriolyse et l'hémolyse. Mais son action est encore plus vaste, en effet la phagocytose est d'autant plus active que le complément est présent.

Da Costa Cruz (2) a montré qu'il y avait une diminution considérable de la teneur en alexine chez les malades atteints de fièvre jaune par rapport aux individus normaux. Sur l'étude de cette baisse du complément, cet auteur a même mis au point une technique permettant d'établir un diagnostic de fièvre jaune.

Le complément joue donc un rôle important dans

les processus réactionnels humoraux.

Pendant longtemps, on attribua au pouvoir bactéricide du sérum un rôle essentiel dans l'immunité jusqu'à ce qu'apparaisse la notion de pouvoir antitoxique qui le relégua au second plan. La plupart des auteurs se rallièrent à cette conception et BOIVIN écrivait : " La bactériolyse des germes par action combinée de l'anticorps et du complément est un phénomène extraordinaire qui ne se produit que chez de rares bactéries ; l'exemple classique est celui du vibrion cholérique. Dans leur immense majorité, les bactéries résistent à la double action de l'anticorps et du complément "

Mais récemment JEANNENEY ; CASTANET et CATOR (4-5) d'une part et Fricker (3) d'autre part reprirent cette notion de pouvoir bactéricide du sang et mirent au point une méthode de mesure du pouvoir hémobactéricide. Ils mettent en présence un germe rigoureusement étalonné et réparti à des dilutions précises avec une quantité exactement dosée de sang témoin dont le pouvoir hémobactéricide est connu. Après ensemencement sur géloses et mise à l'étuve, ils dénombrent les colonies et ils comparent le chiffre obtenu avec la dilution correspondante :

Tantôt ce chiffre est inférieur au nombre des germes ensemencés, donc pouvoir hémobactéricide positif. Tantôt de chiffre est supérieur au nombre de germes ensemencés donc pouvoir hémobactéricide négatif.

Cette notion est applicable en clinique. Certains sujets ont normalement un pouvoir hémobactéricide fort tandis que d'autres, telle la race noire, ont un pouvoir hémobactéricide faible. Lorsque survient une infection, ce pouvoir bactéricide réagit différemment. Tantôt il s'élève et se maintient fort jusqu'à la guérison, tantôt il s'abaisse ou subit des alternatives d'élévation et d'affaiblissement.

Les auteurs attribuent à ce pouvoir hémobactéricide positif la négativité de certaines hémocultures au cours des infections et estiment qu'une hémoculture négative chez un sujet à pouvoir hémobactéricide faible peut être considéré comme correspondant à une réalité.

Ils ont également mesuré un abaissement de ce

pouvoir au cours des hémorragies répétées et des oscillations de ce pouvoir sous l'influence du jeûne, de l'alimentation, de l'anesthésie générale.

Ce complément (I), responsable des propriétés bactéricides du sérum est une substance banale, indépendante de toute immunisation, existant dans le sérum de l'homme sauf chez le nouveau-né et dans le sérum de la plupart des animaux. Il existe dans la lymphe, les exsudats, mais il fait défaut dans le lait, les urines, les larmes, la salive, l'humour aqueuse, le liquide céphalo-rachidien et les transudats. Les travaux de PILLEMER ont montré qu'il s'agissait d'une substance complexe formée de cinq fractions :

- Une fraction C'I , c'est une Y-globuline, thermolabile, détruite par chauffage à + 40° pendant dix minutes. Elle se fixe la première sur l'antigène sensibilisé. C'est la chaînon central des auteurs allemands. Mais elle est incapable à elle seule de provoquer la lyse, il lui faut l'adjonction de :
- La fraction C'2 , appelée chaînon terminal. C'est une protéine thermolabile, détruite par chauffage à + 56° pendant une demi-heure.
- Une fraction C'3 , c'est un phosphoaminolipide thermostable, résistant à un chauffage à + 56° pendant une demi-heure. Elle est absorbée par le venin de cobra, le formol, la levure.
- Une fraction C'4 , isolée par Gordon. C'est une protéine détruite par l'ammoniaque, l'éther, le chloroforme. Elle n'a jamais pu être séparée de C'2 , ces deux fractions représenteraient deux fonctions d'une même molécule.
- Une fraction C'5 , trouvée par les Japonais. C'est une protéine thermostable qui résiste une heure à + 100°. Elle est détruite par la benzine.

Jusqu'à présent on n'a pas élucidé l'origine du complément.

On sait que c'est une substance fragile, thermolabile, détruite par chauffage à + 56° pendant une demi-

heure. Il est détruit par les rayons ultraviolets, le vieillissement, par une agitation mécanique importante, par les ferments protéolytiques, la bile.

Il est éminemment adsorbable par le complexe antigène-anticorps et par le kaolin, la baryte, le cholestérol, le glycogène.

- RÔLE DU LIQUOÏDE DANS LES HÉMOCULTURES -

Dans le chapitre précédent, nous avons vu l'importance de l'action bactéricide du sérum, cette action étant due au complément. Cette étude ne présente pas seulement un intérêt théorique, mais également un intérêt pratique dans la réalisation des hémocultures.

De nombreux travaux ont été faits sur ce sujet, les auteurs essayant par différents moyens de diminuer ou de neutraliser cette action bactéricide du complément.

La méthode la plus simple (16) consiste évidemment à ensemençer le sang dans une très grande quantité de milieu de culture, la dilution permettant d'atténuer suffisamment l'action du complément. Ce procédé se heurte malheureusement à la notion du prix de revient du milieu qui empêche alors son utilisation pratique. Tous les autres essais furent faits dans le but d'utiliser des anticoagulants ayant plus ou moins l'avantage de présenter également un pouvoir anticomplémentaire.

De nombreuses substances ont été employées, en particulier : le citrate de soude, le fluorure de sodium, l'hirudine, le sulfarsénol, le novarsénol, la saponite, la trypsine, l'héparine, le liquoïde, la bile, l'oxalate de sodium.

Pratiquement, trois anticoagulants peuvent être retenus pour leur utilisation dans les hémocultures.

I - La Bile

C'est Conradi (1904) et Kayser (1905) (9) qui l'ont utilisée les premiers. Ils recommandent l'adjonction

de 1cc de bile à 5 cm³ de sang. Le sang bilié est ensemencé en bouillon ou peut être porté directement à l'étuve. En plus de ces propriétés anticoagulantes, la bile possède une action inhibitrice intense sur l'alexine. (Les sangs recueillis sur veinules biliées possèdent une action anticomplémentaire importante qui les empêche d'être utilisés dans les réactions de déviation du complément). La bile favorise largement la croissance des entérobactériacés, elle permet même le développement des brucella. Malheureusement, elle empêche le développement du pneumocoque et du streptocoque en particulier, ce qui rend son usage impropre au diagnostic de la maladie d'Osler. Dans ces conditions, la bile ne peut être retenue comme anticoagulant d'une manière courante et doit être rejetée dans la pratique des hémocultures.

2 - Le citrate de soude (16)

dont l'action anticoagulante a été mise en évidence dès 1902 par Arthus est certainement la substance qui a été le plus souvent utilisée dans ce but à des fins bactériologiques. Son action anticomplémentaire, et par suite, son pouvoir inhibiteur de l'action bactéricide du sang ont donné lieu à maintes controverses.

A la concentration de 5 à 8 ‰, le citrate de soude empêche la coagulation mais, à cette dose, il n'atténue pas le pouvoir bactéricide du sang. Les propriétés bactéricides ne seront inhibées que pour des taux atteignant 15 à 40 ‰, c'est à dire à des taux bien supérieurs à ceux nécessités pour la simple action anticoagulante. GRIMBERT et ses collaborateurs ont étudié expérimentalement le problème. Le résultat de leurs nombreuses recherches peut se résumer ainsi :

pour résister à l'action bactéricide du sang, les germes du groupe des entérobactériacés, de même que le pneumocoque, exigent une citratation de 40 ‰. Une telle concentration, par contre ne permet la culture ni du staphylocoque, ni du meningocoque, espèces qui ne tolèrent qu'une citratation de 10 ‰. Le streptocoque serait encore plus sensible à l'action du citrate et certaines espèces ne supporteraient même pas une citratation de 4 ‰. Comme il n'est pas possible de choisir à l'avance la concentration en citrate la plus favorable pour le développement de telle ou telle espèce microbienne, on est réduit à utiliser une dose moyenne qui n'est peut-être pas la plus favorable pour le développement du germe pathogène en cause.

3 - Le polyanétholsulfonate de sodium ou "Liquoïde Roche"

C'est en 1930 que cet anticoagulant entre en scène. Il possède d'une manière indiscutable une action anti-complémentaire et inactive in vitro la thrombine et les ferments bactériolytiques (Basttistini) (9). Son pouvoir anti-complémentaire est en effet remarquablement élevé puisque, comme l'a montré REGAMEY, il est deux cents fois plus fort que celui du citrate de sodium et cinq cents fois plus marqué que celui de la bile.

De nombreux auteurs étudiant ce produit ont pu constater que non seulement il supprime totalement le pouvoir bactéricide du sang, mais qu'en plus, il favorise le développement, la vitalité et la multiplication des bactéries dans le sang prélevé.

MASSA et BASTTISTINI obtiennent avec le sang liquoïdé des résultats nettement supérieurs à ceux obtenus par les autres méthodes exécutées en parallèle. Ils obtiennent des hémocultures positives dans de nombreux cas de typhoïde et paratyphoïde et dans des septicémies à germes divers : méningocoques, streptocoques, staphylocoques, entérocoques, pneumocoques, mélitensis.

Dans de nombreux cas l'hémoculture contemporaine dans un milieu plus approprié au germe supposé était restée négative. Les auteurs constatent en outre que les germes isolés ainsi ont une vitalité beaucoup plus grande, ainsi un méningocoque de type III put être repiqué à partir du sang originel après un séjour de deux mois à l'étuve. Une autre constatation fut faite :

les germes exigeant du sang ou de l'ascite purent être repiqués sur agar simple, après développement dans le sang du malade.

D'autres recherches furent entreprises par ANTONI et CARTOLARI (10) dans le but de déterminer la dose minima capable de rendre le sang incoagulable et de le décomplémenter en le privant aussi de pouvoir bactéricide. Ils ont démontré qu'en diluant progressivement le sang liquoïdé, on voit réapparaître le pouvoir complémentaire et le pouvoir bactéricide. Il ne faut donc pas encourir l'erreur d'ajouter au sang liquoïdé du bouillon en quantité abondante. Pour ces

deux auteurs, l'hémoculture en bouillon avec liquoïde donne des résultats plus précoces que l'hémoculture en bouillon ordinaire (spécialement pour le développement de streptocoques viridans)

PRETI (8) put isoler du sang d'un malade atteint de méningite, un méningocoque type III au moyen de l'ensemencement du sang (3cc) en liquoïde (1cc) en solution à 1 % en eau physiologique.

Chez le même malade, l'hémoculture effectuée en bouillon glucosé et en gélose ascite avait donné des résultats négatifs. Toujours avec le liquoïde, l'auteur put mettre en évidence le méningocoque dans le liquide céphalo-rachidien et dans le liquide pleural.

D'autres recherches furent faites par AUXILIA (8) sur le sang d'enfants. Il pratiqua 41 hémocultures chez des enfants de 2 à 11 ans atteints d'affection typhique. Il obtient 18 résultats positifs avec liquoïde et 15 avec bouillon ordinaire. Dans trois cas il obtient un résultat positif seulement avec le sang liquoïdé ; il s'agissait deux fois d'enfants ayant une typhoïde de gravité moyenne à la première semaine de la maladie et une fois d'un enfant de 5 ans qui présentait une récédive le 30ème jour.

STUART (17) reconnaît que le sang liquoïdé peut être un bon milieu de culture mais préconise surtout l'emploi de celui-ci comme milieu de transport pour amener des échantillons de sang au laboratoire. Ce dernier peut alors être distribué dans les milieux de cultures variés jugés opportuns. En effet, à partir de ce sang liquoïdé, on a réussi à isoler des germes tels que streptocoques anaérobies, bacillus fusiformis et F. Nécroforus. L'auteur rapporte un cas de leptospira ictérohémorragiae qui, à partir de ce sang liquoïdé put être repiqué sur un milieu spécial.

De nombreux isolements du sang de cobayes infecté avec ces leptospires ont démontré la conformité générale du procédé.

Enfin, récemment HENRARD et PEEL (13) ont décrit avec le liquoïde des hémocultures positives à trypanosome non seulement dans des cas où les trypanosomes sanguicoles étaient rares, mais également chez ceux cliniquement ou expérimentalement suspects où les procédés classiques de

diagnostic, en particulier avec le citrate de soude, n'avait pu mettre en évidence le trypanosome.

Ils utilisent une solution de liquoïde à 1% dont ils mettent 1cc dans la seringue avant de ponctionner la veine. Ils recueillent 5cc de sang, et ce sang liquoïdé est ensuite réparti dans des tubes, à raison de 0,5 cc par tube et placés à l'étuve à 25°-28°. A partir du 10ème jour ils prélèvent une goutte de sang qu'ils examinent entre lame et lamelle, cet examen est renouvelé tous les deux jours. Entre le 10ème et le 20ème jour, les trypanosomes se sont multipliés.

L'ACTION ANTICOMPLEMENTAIRE DU LIQUOÏDE ET SON INFLUENCE SUR LE DEVELOPPEMENT DES GERMES

Au cours de ce travail, nous avons d'abord vérifié le pouvoir hémobactéricide naturel du sérum, puis nous avons réalisé dans les mêmes conditions expérimentales des cultures de différents germes en présence de citrate de sodium et de liquoïde. Enfin nous avons utilisé le liquoïde à différentes doses pour voir s'il existe une dose optimale d'utilisation et surtout pour s'assurer si ce produit introduit en quantité trop abondante dans les milieux de culture ne risque pas, par sa seule présence, d'être nuisible à un développement correct des germes.

En effet, Von HAEBLER et MILES (17) (1938) trouvèrent que à une concentration de liquoïde de 0,1 à 0,2%, les méningocoques étaient inhibés. Ils obtiennent des résultats satisfaisants avec plusieurs organismes à une concentration de 0,03 à 0,05 %. HOARE (1939), cependant, trouva que à une concentration de 0,8 % de liquoïdes, les streptocoques anaérobies ne poussaient pas aussi bien que dans un milieu semblable contenant de la trypsine.

I°) - Nous avons étudié l'action du liquoïde uniquement en fonction de sa concentration sur l'importance du développement microbien.

Dans ce travail, nous avons utilisé quatre germes différents : staphylocoque doré, escherichia coli, proteus, shigella sonnei.

Dans des tubes à essai contenant 4cc de bouillon peptoné ordinaire, nous ajoutons une quantité fixe de liquoïde, soit 1cc à des dilutions progressivement décroissantes. Nous ensemençons chaque germe avec une goutte de la

suspension dans 10cc d'eau physiologique. En plus des onze tubes contenant du liquoïde, nous mettons un douzième tube contenant du bouillon et qui servira de témoin. Tous les tubes sont portés à l'étuve pendant vingt-quatre heures, agités au moment de la lecture.

Le trouble permettant d'apprécier le développement microbien sera noté de + à ++++.

Le tableau I résume le résultat de nos observations. Il ressort d'une manière évidente, que les concentrations trop élevées en liquoïde inhibent partiellement le développement des germes. Ce développement atteint la même importance que dans le tube témoin et ceci pour les 4 germes essayés à condition de ne pas dépasser la concentration de 0,625 % de liquoïde, ce qui correspond à une concentration finale dans le milieu de culture qui sera approximativement de 1 %/100.

2°) - Nous avons voulu comparer l'action sur le développement des germes :

1°- du sérum frais lequel contient du complément.

2°- du sérum décomplémenté par chauffage pendant une demi-heure à + 56°.

3°- Du sérum frais additionné de liquoïde permettant d'apprécier l'action anti-complémentaire de ce produit.

4°- du sérum frais additionné également de citrate de sodium pour en apprécier l'action anticomplémentaire.

L'étude portera sur 6 germes différents qui seront : staphylocoque doré ; streptocoque , escherichia coli, proteus salmonella typhi, shigella sonnei.

Pour chaque germe, nous disposons de 5 tubes à essai :

- Le premier contient 4cc de bouillon peptoné ordinaire

- Le deuxième contient 3cc de bouillon plus 1cc de sérum humain frais (nous avons recueilli du sang humain stérile-

ment que nous avons centrifugé aussitôt).

- Dans le troisième tube, nous avons mis 3cc de bouillon plus 1cc de sérum humain chauffé, de la même provenance que le sérum frais utilisé dans le deuxième tube.
- Dans le quatrième tube, nous avons ajouté 3cc de bouillon, 1cc de sérum frais et 0cc2 d'une solution de liquoïde à 1%.
- Dans le cinquième tube, nous mettons 3cc de bouillon citraté à 10 % plus 1cc de sérum frais.

Chaque tube de chaque série est ensemencé avec 1 goutte d'une suspension soigneusement agitée de chacun des germes à étudier. Après vingt-quatre heures, les tubes sont examinés après agitation.

Les résultats de chaque développement sont exprimés de + à ++++ et reproduits dans le tableau II.

Cette expérience prouve d'une manière parfaite que la présence de sérum frais inhibe plus ou moins totalement le développement des germes. Par contre, les bouillons additionnés de sérum chauffés (donc décomplémentés) ou de sérum frais additionnés de liquoïde ou de citrate permettent un développement sensiblement comparable à celui obtenu dans le bouillon pur. Toutefois, il semble que le liquoïde permet dans certains cas, en particulier du streptocoque, un développement meilleur que le sérum chauffé ou le citrate.

Nous avons complété cette lecture macroscopique des cultures par une lecture microscopique. Nous avons constaté alors que les cultures en liquoïde ne sont pas uniformément troubles, les germes y sont en effet agglutinés et cela quel que soit la souche dont ils sont issus, alors que le même germe donne une culture bien dispersée dans les tubes de bouillon et dans ceux qui contiennent du sérum chauffé. Il faut noter toutefois que dans les tubes avec sérum frais sans liquoïde, nous avons quelquefois une légère agglutination. C'est ce que nous avons résumé dans le tableau III.

Ce fait avait été déjà signalé par ANTONI et CARTOLARI (II) dans les hémocultures avec liquoïde. Ces auteurs attestent que les hémocultures avec liquoïde ne se

présentent pas uniformément troubles, parce que les germes viennent agglutinés au stade naissant. Ils se trouvent alors dans la couche blanchâtre qui surnage les globules rouges sédimentés. Il faut donc une observation minutieuse pour que n'échappe pas un résultat positif, d'où la nécessité de repiquer sur un milieu adapté au germe dont on suppose l'existence.

Ce fait de l'agglutination présente donc un petit inconvénient, obligeant à un repiquage pour l'aspect des germes. De plus, dans les hémocultures à salmonella, le diagnostic étant fait par agglutination microscopique avec des sérums spécifiques, il est évidemment nécessaire de travailler avec une émulsion de germes bien dispersés. Pour obtenir ce résultat, il faut donc repiquer ces germes afin d'avoir une culture homogène. Selon toute vraisemblance, ce phénomène de l'agglutination des germes dû au liquoïde doit s'ajouter dans certains cas à l'agglutination naturelle par des anticorps existant déjà dans le sérum du malade au moment de la prise de sang.

TABLEAU I.

	5cc de bouil- lon.	4cc de bouil- lon + 1cc li- quide à 20%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 10%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 5%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 2,5%	4 cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 1,25%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 0,625%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 0,312%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 0,156%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 0,078%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 0,039%	4cc. bouil- lon + 1cc li- quide à 0,0195%
Staphy- locoqu	++	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++
Escheri- chica Toli	+++	++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Protéus	+++	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Shigel- la Sonnei	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

TABLEAU II.

	A	B	C	D	E
	4cc bouillon	3cc bouillon + 1cc sérum frais	3cc bouillon + 1cc sérum chauffé	3cc bouillon + 1cc sérum frais + 0,2cc liqueur de	3cc bouillon citraté + 1cc sérum frais.
Staphylocoque	+++	+	+++	++++	++++
Streptocoque	++	0	++	+++	++
Escherichia Coli	++++	++	++++	++++	++++
Protéus	++++	++	++++	++++	++++
Salmonella Typhi	+++	+	+++	++++	+++
Shigella Sonnei	+++	+	++	+++	+++

TABEAU III.

	4 cc bouillon	3cc bouillon + 1cc sérum frais	3cc bouillon + 1cc sérum chauffé	3cc bouillon + 1cc sérum frais + 0,2cc liqueur
Staphylocoque	pas agglutination	agglutination	pas agglutination	agglutination
Escherichia Coli	pas agglutination	pas agglutin.	pas agglutination	agglutination
Protéus	pas agglutination	légère agglut.	pas agglutination	agglutination
Salmonella Typhi	pas agglutination	légère agglut.	pas agglutination	agglutination
Shigella Sonnei	pas agglutination	pas agglutinat.	pas agglutination	légère agglutin.

CONCLUSIONS

Reprenant l'étude de l'utilisation du liquoïde dans les hémocultures, nous pouvons retenir dans nos conclusions

I - Il existe dans le sérum de tout individu, une substance non spécifique appelée complément et qui est responsable de l'action bactéricide du sérum. Cette action bactéricide est extrêmement importante, empêchant pratiquement le développement des germes (sauf le charbon et la peste) dans le sang circulant. In vitro, cette action est mise facilement en évidence, les différents microbes, en présence de sérum frais se développent très mal ou même pas du tout. Par contre les mêmes microbes se multiplient très bien si on neutralise l'action du complément, soit par chauffage, soit par adjonction d'une substance inhibitante.

2 - Dans la pratique des hémocultures, nous avons étudié les trois anticoagulants les plus régulièrement employés, et présentant un pouvoir anticomplémentaire marqué. Nous avons éliminé la bile qui a le désavantage d'empêcher le développement de certains germes. Par contre le citrate de sodium et le liquoïde peuvent être retenus avec des qualités sensiblement équivalentes. Toutefois, le citrate de sodium est critiqué par certains auteurs pour lesquels ce produit aurait une action inhibitrice sur certains germes aux doses nécessaires pour avoir une action anticomplémentaire efficace.

Pour notre compte nous n'avons pas relevé cette action inhibitrice. Par contre, aux doses minima utilisables comme anticoagulant le liquoïde s'est montré très fortement anticomplémentaire, semblant même favoriser dans certains cas le développement des germes. A doses très élevées, nettement supérieures à celles nécessaires pour obtenir une action anti-

coagulante normale, le liquoïde se montre partiellement inhibiteur.

3 - Le liquoïde nous semble donc être l'anticoagulant de choix utilisable dans les hémocultures, le seul inconvénient limité d'ailleurs, étant de provoquer une agglutination de germes, et nécessitant par suite un repiquage pour obtenir une culture parfaitement homogène.

=====

- B I B L I O G R A P H I E -

- 1 - Iline Valerien

Contribution à l'étude du complément et de ses fractions.

Thèse de Doctorat 1944

- 2 - Da Costa Cruz

C.R. Soc Biologie 1929 - IOI - 948

1929 - IOI - 954

- 3 - Fricker J.

La détermination de l'index bactéricide absolu des sérums

Presse Médicale Août 1952

- 4 - MM. Jeanneney Castanet et Cator

Nouvelle méthode de mesure du pouvoir hémobactéricide. Ses applications pratiques.

Presse Médicale N° 70 Août
1938.

- 5 - MM Jeanneney, Castanet et Cator

Augmentation du pouvoir hémobactéricide sous l'influence des corps azoïques.

Société de Biologie de Bordeaux Avril 1938.

- 6 - Fajermann et Van Damme

Le pouvoir bactéricide du sang. Sa mesure et sa

valeur en clinique

Presse Médicale 21 Mai 1938

7 - Laporte R.

Immunologie de l'hémolyse. Modalités de l'action
inhibitrice des sérums nouveaux.

Annales de l'Institut Pasteur
1952 T. 83

8 - Auxilia Dr F

La bactériemia tifosa nell'infanzia. Ricerche con
methodo di arricchimento.

Revista di Clinica Pediatrica
1934 32 N° 7 818

9 - Massa et Battistini

Emoculture con sostauze complementariti ed ini-
benti il potere battericida

Riforma Medica 49 159 1933

10 - V.de Antoni et C. Carlotari

Il liquido quale inhibitore del potere battericida
del sangue nelle emoculture.

Boll dell Istituto seroterapico Mila-
nese. 12 618 1933

11 - Dott Paolo de Gara et Dott Giorgio Sogliani

Ricerche sperimentali sucl'uso del liquido nelle
emoculture

Boll dell Istituto Seroterapico
Milanese 15 171 1936

12 - Lima J.P. Carvalho et Arantes M.

Hemocultura em liquido

Annales Paulistas de Medicina e Cirur-
gica 1940 N°2 87

Presse Médicale 1940 N° 62-63 75

13 - C. Henrard et E. Peel

L'hémoculture, moyen diagnostique de la trypanosomiase.

Comm. Soc. Intern. recherche Trypano

Anvers 20-23 Juin 1950

14 - Penfold J.B. Goldman J. et Fairbrother R.W.

Blood Cultures and selection of media (Manchester)

Lancet 1940 238 13 Janvier 65

15 - Van der Hoeden J.

The influence of "Liquoid-Roche" on the phagocytosis of brucella organism in the blood of man and various animals.

Acta Brevia Neerl 1942 12 N° I-3 18

16 - Novel E.

L'hémoculture comme moyen de diagnostic auxiliaire dans la pratique médicale (Genève)

Praxis 1946 N° 34 551

17 - Stuart R.D.

The value of liquoid for Blood Culture (Glasgow)

J. Clin. Path. I 1948 N° 5 311

18 - Chorine V.

Mode d'action du liquoïde dans la coagulation du sang. Rôle du calcium plasmatique

C.R. Soc. Biologie 135 1941 N° 7-8

19 - Gengou O.

Calcium et alexine

Ann. Institut Pasteur 1952 T 83
p. 561-575

Vu : Le Président de Thèse :

Monsieur le Professeur FASQUELLE

Vu : Le Doyen de la Faculté de Médecine de Paris :

Monsieur le Professeur BINET

Vu et Permis d'imprimer : Le Recteur de l'Académie de PARIS

J. SARRAILH

